

Title	5 : FGF 7 はラット唾液腺創傷治癒における幹細胞の細胞増殖と分化を促進させる
Author(s)	遠藤, 多加史; 小林, 史卓; 金内, 洋光; 外村, 岳央; 明石, 良彦; 鷺見, 正美; 根本, 淳; 中條, 貴俊; 中島, 啓; 矢野, 尚; 國分, 克寿; 村上, 聡; 松坂, 賢一; 井上, 孝
Journal	歯科学報, 118(3): 240-240
URL	http://hdl.handle.net/10130/4618
Right	
Description	

No.5 : FGF7はラット唾液腺創傷治癒における幹細胞の細胞増殖と分化を促進させる

遠藤多加史, 小林史卓, 金内洋光, 外村岳央, 明石良彦, 鷺見正美, 根本 淳, 中條貴俊,
中島 啓, 矢野 尚, 國分克寿, 村上 聡, 松坂賢一, 井上 孝 (東歯大・臨検病理)

目的: 唾液腺の実質は、腺房細胞、筋上皮細胞および導管細胞より構成された重要な外分泌腺であるが、損傷を受けたり、萎縮消失した唾液腺の再生は起こりにくいため、機能回復が試みられてきたが、成果は得られていない。今回我々は、実験的に作製した損傷部位に FGF7 を投与することで、唾液腺の創傷治癒に与える影響を検討した。

方法: 実験には体重約200gのSD系雄ラットを用いた。全身麻酔下に、顎下腺を明示し、直径3mmの生検パンチにて唾液腺に欠損を作製した。20 μ gのリコンビナント FGF7 を生理食塩水に溶解し、200ng/mlの FGF7 濃度となるようコラーゲンゲルに混ぜ、欠損部に填塞した。その後欠損部はゴアテックス膜にて被い、実験を終えた。実験後、5日、7日、10日及び14日後に動物を屠殺し、組織標本作製した。免疫組織化学染色のために、Vimentin, a-SMA, Pan-CK, CD49f, c-kit, AQP5 を一次抗体に用いた。また、移植部位の組織を摘出し、Vimentin, aSMA, Keratin 13, keratin 19, CD49f, AQP5 の各 mRNA の発現を RT-PCR にて検討した。コラーゲンゲルのみを対照群とした。

結果: 実験7日目で、FGF7群ではより多くの細胞がコラーゲンゲルの中に侵入する像がみられ、14日目ではコラーゲンゲルはほとんど吸収していた。これらの細胞は、辺縁部で vimentin 陽性を示し、aSMA に陽性を示す細胞も全体的に見られた。幹細胞を示す CD49f と c-kit に陽性を示す細胞は、散見され FGF7 群で顕著であった。Pan-CK 陽性の導管様細胞も見られた。ゲル内に AQP5 に陽性を示す腺房様細胞は観察されることはできなかったが、創傷辺縁部には僅かに陽性細胞が見られた。全ての mRNA 発現は有意に多く発現していた。

考察: 唾液腺欠損の創傷治癒では、従来瘢痕組織による治癒が起こり、機能を持つ唾液腺の再生が起こることはほとんど期待できなかった。今回の実験で、FGF7 を含むコラーゲンゲル内に侵入した細胞は、CD49f, c-kit に陽性を示す幹細胞様細胞がみられ、さらに腺房細胞や導管の特徴を示す抗体にも陽性を示し、mRNA レベルにおいてもその発現を認めた。このことより、FGF7 は唾液腺欠損内に幹細胞を誘導し、そしてそれらの細胞を増殖・分化させることが示唆された。

No.6 : ラット唾液腺創傷部に入れたマトリゲルの影響

— in vivo から in vitro での検討 —

金内洋光, 小林史卓, 遠藤多加史, 外村岳央, 明石良彦, 鷺見正美, 根本 淳, 中條貴俊,
矢野 尚, 中島 啓, 國分克寿, 村上 聡, 松坂賢一, 井上 孝 (東歯大・臨検病理)

目的: 再生の一般原則において、唾液腺組織は再生し難い組織として位置付けられている。今回我々は、損傷を受けた唾液腺組織の再生の為に、成長因子を多く含むコラーゲンIVを基質としたマトリゲルを挿入し、マトリゲル中に侵入した細胞の性状を調べる為に、in vitro に移し検討し、免疫組織化学的に検討した。

方法: 実験には体重約200gのSD系雄ラットを用いた。全身麻酔下に、顎下腺を明示し、直径3mmの生検パンチにて唾液腺に欠損を作製した。その後欠損部にマトリゲル(主成分: ラミニン, コラーゲンIV, エンタクチン, 含有成分: EGF, bFGF, NGF, PDGF, IGF-1, TGF- β)を填即した。その後欠損部はゴアテックス膜にて被い、実験を終えた。実験後、5日後に動物を屠殺し、実体顕微鏡下でマトリゲル部を取り出し、96時間組織培養し、その後固定し標本作製した。免疫組織化学染色のために、Pan-CK, CK14, p63, S100, aSMA, GFAP, Vimentin を一次抗体に用いた。

結果: 唾液腺内に残存するマトリゲル内には、周囲からの細胞の浸潤と導管様構造の形成が見られた。培養後96時間でマトリゲル内には、導管様構造とそ

の周囲に円形から紡錘形の細胞の散在性侵入が観察された。導管構造を示す細胞には、上皮細胞マーカーの Pan-CK に陽性で、基底細胞や筋上皮細胞のマーカーである CK14 および P63 は一部の細胞に陽性を示していた。また、神経鞘細胞や一部筋上皮細胞のマーカーである S100 には、導管構造の一部または、周囲の円形から紡錘形の細胞にも陽性を示していた。さらに、筋上皮細胞への分化の確認となるマーカーの GFAP と aSMA には、多くの導管様細胞に陽性がみられた。線維芽細胞マーカーである Vimentin には、導管様構造周囲の円形から紡錘形細胞に陽性を示していた。

考察: 当講座の Kobayashi et al. 2016 は、同じ実験系を用いて、in vivo でコラーゲンゲル内には、幹細胞の侵入と腺房系、導管系、および筋上皮系の細胞の分化を確認している。本実験では、腺管様構造が著明であり、マトリゲル内の各成長因子が導管形成への分化を促進することが考えられた。唾液腺の発生においても、胎生期に導管様構造の形成が始まり、その後腺房への分化が見られることが知られている。今回の実験でも、発生初期の段階を再現できることが示唆された。